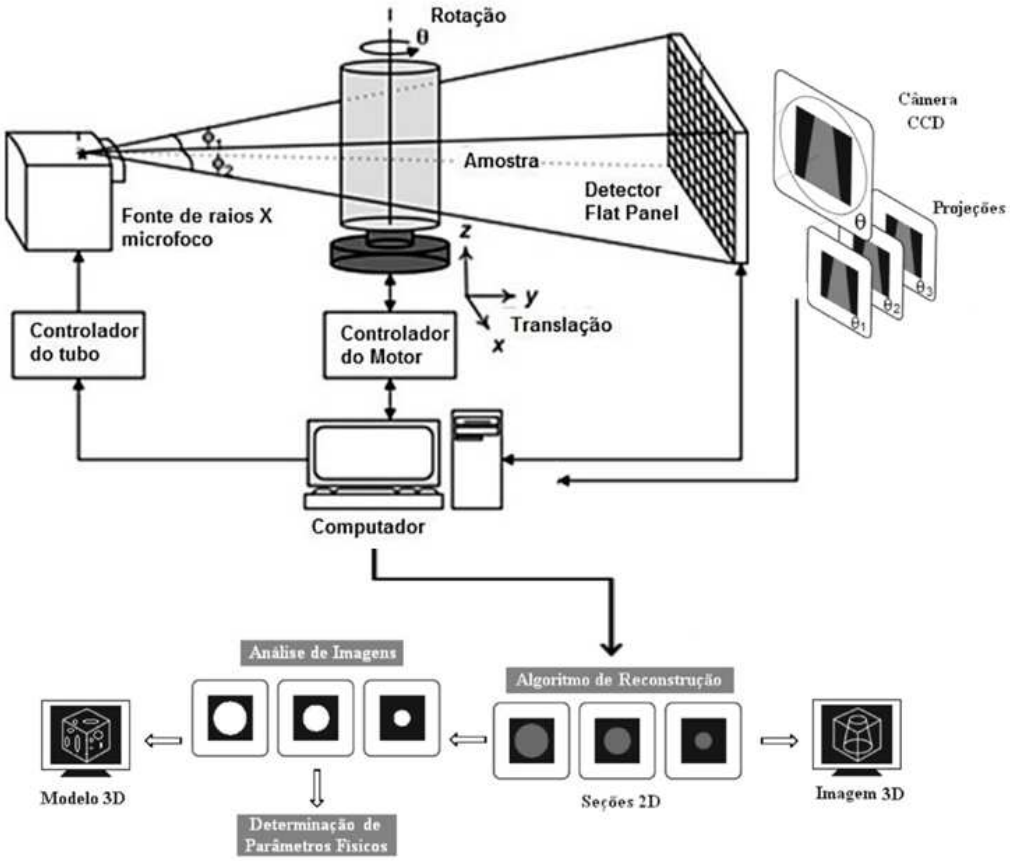
estruturas internas de uma amostra (SOUZA, 2017), medindo variações de densidade do material que as constitui (FERNANDES et al., 2009). De maneira geral, trata-se da combinação de aquisição e processamento de dados para produzir imagens 2D da anatomia (SOUZA, 2017), que serão usadas na reconstrução de sua estrutura tridimensional, através de um algoritmo matemático (FERNANDES et al., 2009). Segundo Souza (2017), a maioria dos sistemas de microtomógrafos utiliza uma fonte de raios X de feixe cônico associada a um detector bidimensional (câmera CCD, do inglês *Charge Coupled Device*) (Figura 20). Quando a fonte de raios X é rodada circularmente em torno da amostra, é registrado um conjunto de radiografias 2-D em ângulos de vista diferentes (SOUZA, 2017).

Figura 20 – Mecanismo de funcionamento de um microtomógrafo desde a obtenção das imagens até a obtenção do modelo ou imagem 3D.

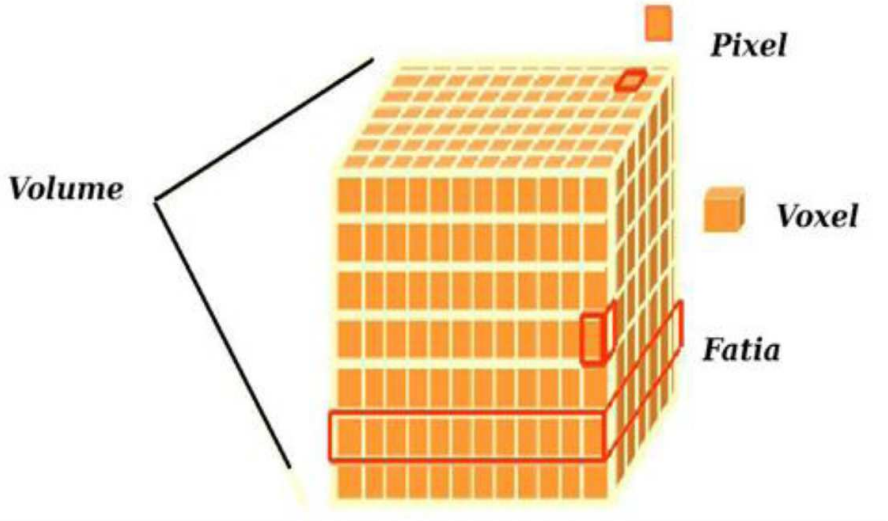


Fonte: esquema montado a partir de imagens presentes em Fernandes et al. (2009) e Souza (2017).

Na representação tridimensional de imagens, o modelo de matriz bidimensional é substituído pelo modelo de matriz volumétrica onde os pixels (unidade bidimensional de imagens digitais) ganham a dimensão de profundidade espacial, sendo chamado de voxel (SOUZA, 2017) (Figura 21). Na tomografia, cada

imagem reconstruída é vista como uma coleção de voxels cujas dimensões no plano de imagem correspondem às dimensões horizontais dos pixels e a profundidade corresponde à espessura da imagem (PINHEIRO, 2008; SOUZA, 2017).

Figura 21 – Modelo de representação tridimensional de imagens.



Fonte: esquema obtido em Souza (2017).

Rotoscopia Científica

Quando se posiciona, sequencialmente, um esqueleto físico baseado em imagens de Raios-X, trata-se de uma forma simples de "Rotoscopia", que é uma técnica de produção cinematográfica em que um artista gráfico utiliza imagens de uma cena ao vivo como guia de animação (KERLOW, 1996; DOBBERT, 2005; GATESY et al., 2010). Já a “Rotoscopia Científica” é um método de análise de movimento que aproveita a qualidade das ferramentas digitais para criar modelos de esqueletos e, assim, extrair dados cinemáticos tridimensionais de imagens em videofluoroscopia ou filmagem convencional de corpo externo, e renderizar animações (i.e. compilar e obter o produto final de um processamento digital) com precisão (GATESY; ALENGHAT, 1999; GATESY et al., 2004, 2007).

De acordo com Gatesy et al. (2010), o objetivo da Rotoscopia Científica é animar e quantificar, simultaneamente, o movimento do esqueleto de um animal, posicionando um modelo de computador 3D de acordo com as perspectivas de filmagens tradicionais de corpo externo ou videofluoroscopia (Figura 22). Esta

técnica envolve três etapas principais: 1) elementos da configuração experimental são recriados como uma cena 3D usando um *software* de animação; 2) modelos tridimensionais dos ossos são criados a partir de tomografia computadorizada e articulados por articulações virtuais em uma marionete digital (*rigging*); e 3) essa marionete esquelética é representada pelo alinhamento de cada modelo de osso para corresponder às imagens de fundo geradas a partir da vídeofluoroscopia (GATESY et al., 2010).

Figura 22 – Exemplo de imagem gerada por Rotoscopia Científica.

Legenda: Esqueleto tridimensional em vista ventral posicionado de acordo com imagens de videofluoroscopia durante a locomoção de *Tiliqua* sp. A partir de uma técnica avançada chamada “XROMM - Scientific Rotoscoping”.

Fonte: *Frame* obtido a partir do vídeo disponível em <https://www.youtube.com/watch?v=HQYie4U_PEM> (Acesso em 07 Nov. 2018).

1 **HIPÓTESES**

Diante das lacunas e premissas apresentadas no levantamento bibliográfico realizado, foram testadas a seguintes hipóteses:

1) Há variações cranianas entre diferentes espécies do gênero *Leposternon* que ocorrem na América do Sul e essas estão relacionadas com tamanho e fatores edáficos;

2) Espécies que compartilham padrão geral da cabeça em forma-de-pá de superfície côncava (*shovel*) apresentam estratégias de escavação semelhantes, porém as dimensões corporais alteram sua performance;

3) *Leposternon microcephalum* é um modelo viável para simular o comportamento escavatório no ambiente virtual através da Rotoscopia Científica, possibilitando incrementar os estudos de sua biomecânica.

2 **OBJETIVOS**

1) Determinar variações cranianas entre cinco espécies do gênero *Leposternon* que se distribuem ao longo da América do Sul;

2) Determinar variações morfológicas e biomecânicas entre duas espécies simpátricas do gênero *Leposternon*, *L. microcephalum* e *L. scutigerum*;

3) Aplicar a técnica de Rotoscopia Científica para simular o ciclo escavatório de *L. microcephalum* no ambiente virtual (*in silico*).

3 **MATERIAIS E MÉTODOS**

3.1 **Amostras estudadas**

Em comparação a outros grupos de vertebrados, os Amphisbaenia são geralmente pouco representados em coleções museológicas e tal fato é atribuído ao seu hábito de vida fossorial que dificulta sua localização e coleta (NAVEGA-GONÇALVES, 2004; BARROS-FILHO et al., 2008; MENDES, 2017).

Na presente tese, para o estudo cujo objetivo foi analisar varaições cranianas em *Leposternon* ao longo da América do Sul, foram analisados 61 crânios de espécimes adultos de cinco das 11 espécies que ocorrem no continente sul-americano, que são: *Leposternon scutigerum* (Hemprich, 1820), *Leposternon microcephalum* Wagler, 1824, *Leposternon polystegum* (Duméril, 1851), *Leposternon infraorbitale* Berthold, 1859 e *Leposternon wuchereri* (Peters, 1879).

Mesmo que o tamanho do corpo varie consideravelmente entre os espécimes desse gênero (BARROS-FILHO, 2000), foram considerados adultos aqueles com comprimento do corpo acima de 150 mm (GANS, 1971). As coordenadas geográficas das diferentes localidades de coleta foram obtidas para cada espécime, resultando em 23 localidades distribuídas em oito Estados brasileiros (Bahia, Ceará, Goiás, Pará, Paraná, Rio de Janeiro, Rondônia e Santa Catarina), assim como no Paraguai e Argentina.

Das cinco espécies aqui estudadas, *L. scutigerum* possui a distribuição mais restrita, sendo endêmica do Estado do Rio de Janeiro (BARROS-FILHO, 1994; ROCHA et al., 2009). Além disso, é listada como Ameaçada de Extinção pela IUCN (COLLI et al., 2016) e está incluida na Lista Vermelha Brasileira de espécies ameaçadas (veja Portaria MMA no. 444 de 17 de dezembro, 2014).

A espéce *Leposternon microcephalum* foi amostrada para um maior número de localidades (14), seguida de *L. polystegum* com quatro localidades, *L. infraorbitale* (duas localidades) e *L. wuchereri* (uma localidade). Tendo em vista seu endemismo, *L.scutigerum* foi amostrado em apenas quatro municípios do Estado do Rio de Janeiro. A Tabela 1 mostra as localidades para cada espécie.

Tabela 1 – Localidades de onde as espécies de *Leposternon* aqui analisadas são oriundas.

Espécie	Localidades
Leposternon microcephalum	Adrianópolis, PR, Brasil; Paranaguá, PR, Brasil; Brasília (DF), GO, Brasil; Corrientes, Argentina; Bom Jesus do Itabapoana, RJ, Brasil; Rio de Janeiro, RJ, Brasil; Governador Celso Ramos, SC, Brasil; Petrópolis, RJ, Brasil; Espigão d'Oeste, RO, Brasil; Departamento Caazapá, Paraguai; Ayolas, DM, Paraguai; Joinville, SC, Brasil; Colonia Nueva Colombia, DCo, Paraguai; Areguá, DC, Paraguai
Leposternon polystegum	Bragança, PA, Brasil; Maranguape, CE, Brasil; Ubajara, CE, Brasil; Fortaleza, CE, Brasil
Leposternon infraorbitale	Ilhéus, BA, Brasil; Itabuna, BA, Brasil
Leposternon wuchereri	Mucuri, BA, Brasil
Leposternon scutigerum	Itaboraí, RJ, Brasil; Saquarema, RJ, Brasil; Rio de Janeiro, RJ, Brasil; Maricá, RJ, Brasil

Para cada espécie o número de exemplares fêmeas, machos e sexo indeterminado está assim distribuído: *L. infraorbitale* (5:0:1), *L. polystegum* (5:8:2), *L. wuchereri* (4:2:4), *L. scutigerum* (1:3:2) e *L. microcephalum* (5:14:5).

Já para atingir o objetivo de determinar variações morfológicas e biomecânicas entre duas espécies simpátricas de *Leposternon*, foi utilizado um total de 26 espécimes adultos (*L. microcephalum* N= 14; *L. scutigerum* N = 12). Nessa amostra estão incluídos oito indivíduos vivos (*L. microcephalum* N = 7; *L. scutigerum* N = 1) que foram submetidos às filmagens para anáises locomotoras e 18 espécimes provenientes de coleções científicas depositadas no Museu Nacional e no Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Da mesma forma apresentada anteriormente, exemplares com mais de 150 mm foram considerados adultos (GANS, 1971) e utilizados nas análises.

Tendo em vista a reconhecida variação morfológica de *L. microcephalum* de acordo com sua ampla distribuição geográfica na América do Sul (BARROS-FILHO,

2000), foram utilizados apenas exemplares provenientes do estado do Rio de Janeiro, Brasil. Dessa forma, minimizando possívies erros durante as analises.

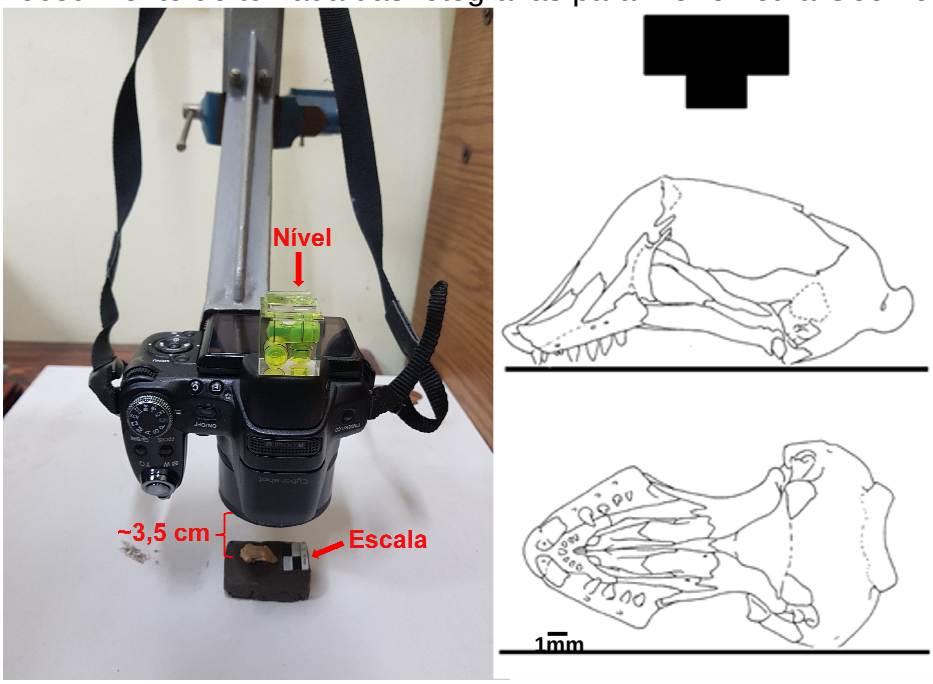
As coletas de campo dos indivíduos vivos foram aprovadas pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), órgão ambiental do governo brasileiro, com um número de licença permanente para coleta de material zoológico (15337), desde 28 de maio de 2008. Uma lista completa dos espécimes, seu sexo, localidade de coleta e o museu no qual o espécime está depositado é fornecido no Apêndice A.

3.2 **Análises de Morfometria Geométrica**

Para verificar variações cranianas entre as cinco espécies de *Leposternon* consideradas para esse estudo e fornecer inferências sobre a influência do tamanho do crânio e de fatores geográficos em tais variações, quando presentes, foi utilizada a técnica de Morfometria Geométrica 2-D baseada em *landmarks* e *semilandmarks* (BOOKSTEIN, 1991, 1997; MACLEOD, 2013).

Os crânios dos espécimes utilizados para essas análises foram fotografados nas vistas dorsal e ventral com uso de uma mesa fotográfica associada a uma camera digital Sony DSC-HX1. Os crânios foram mantidos a uma distância padrão de 3,5 cm. Os espécimes e a câmera foram fixados e nivelados com um nível para garantir que o plano da câmera e o eixo do comprimento máximo do crânio estivessem exatamente paralelos um ao outro. Dado o pequeno tamanho das estruturas fotografadas, a função macro da câmera foi ativada para garantir a resolução dos detalhes. Uma barra de escala foi posicionada, e os crânios foram colocados em uma posição padrão durante todas as fotos (Figura 23).

Figura 23 – Procedimento de tomada das fotografias para Morfometria Geométrica.

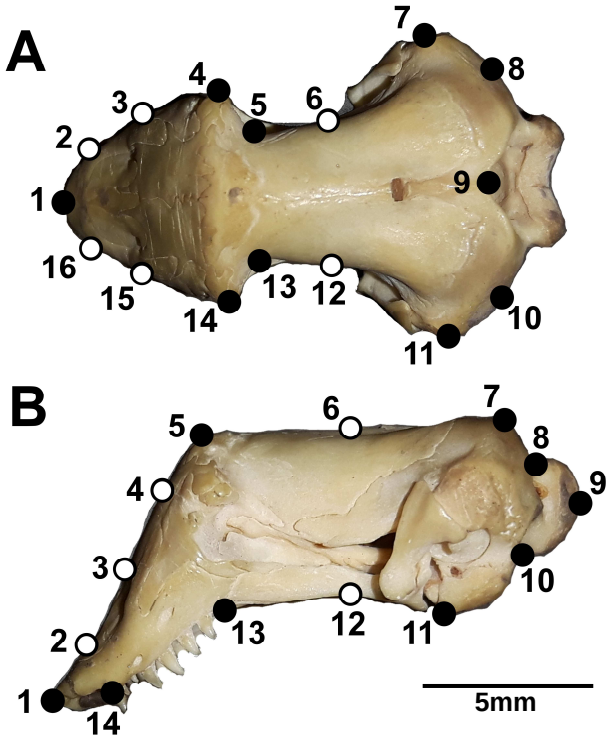


Legenda: à esquerda o *Set* Fotográfico e à direita a posição padrão dos crânios, em relação à câmera, durante todas as fotos da vista dorsal e lateral.

Fonte: o esquema da esquerda foi adaptado de Hohl et al. (2018), artigo publicado oriundo da presente tese.

Para descrever os caracteres cranianos foi priorizado o uso de *landmarks* Tipo I e II (BOOKSTEIN, 1991). Estruturas curvas como o contorno do focinho e pontos considerados difíceis de serem marcados (e.g. limites laterais do segmento intermediário) foram descritas usando *semilandmarks*, que foram analisadas de froma equivalente e juntamente aos *landmarks* (MacLEOD, 2013). Dez *landmarks* e seis *semilandmarks* foram usados para descrever a vista dorsal do crânio e nove *landmarks* e cinco *semilnadmarks* para a vista ventral (Figura 24). O *software* MakeFan6 (SHEETS, 2002) foi usado para gerar “pentes (*combs*)” utilizados para pontuar os *semilandmarks*.

Figura 24 – Posição dos *landmarks* (círculos pretos) e *semilandmarks* (círculos brancos) no crânio de um espécime de *Leposternon microcephalum* (UnB 3663) usados para descrever a vista dorsal (A) e ventral (B).



Fonte: Imagem modificada de Hohl et al. (2018), artigo publicado oriundo da presente tese.

Na vista dorsal, os *landmarks* 1 e 9 foram utilizados como pontos de referência para gerar o *comb*, enquanto na vista lateral foram usados os pares de *landmarks* 1 e 5, e 5 e 7. Os *landmarks* e *semilandmarks* foram, então, pontuados utilizando o *software* TPSDig2 versão 2.0 (ROHLF, 2004). Cada marco foi pontuado duas vezes para estimar o erro de medição. Essa repetição foi realizada duas semanas após a primeira rodada de marcação (veja VISCOSI; CARDINI, 2011). Os dois conjuntos de dados foram submetidos à uma Análise de Função Discriminante, mas não houve diferença estatisticamente significante entre eles.

A superposição de Procrustes foi usada sobre as coordenadas brutas (x, y – valores referentes à posição dos *landmarks* e *semilandmarks*), para que tamanho e forma fossem analisados separadamente e para minimizar diferenças relacionadas ao tamanho, posição e orientação (ROHLF; SLICE, 1990). O tamanho de cada espécime é dado pelos valores dos tamanhos do centróide (do inglês *Centroid Size* – CS) (VISCOSI; CARDINI, 2011). Após obter as coordenadas Procrustes no *software* MorphoJ (KLINGENBERG, 2011), o *software* TPSSmall versão 1.34 foi

usado para testar se a variação na forma entre os espécimes estava dentro dos limites requeridos, para permitir procedimentos analíticos baseados na aproximação do espaço tangente, tais como os métodos *Thin-Plate-Spline* (ROHLF, 2017). Esse *software* faz regressões através da origem do conjunto de distâncias Euclidianas no espaço Euclidiano para o conjunto de distâncias de Procrustes. Se ótimo, essa aproximação retornará uma regressão com inclinação e correlação com valores muito próximos ou igual a 1,0 (VISCOSI; CARDINI, 2011). As amostras também foram inspecionadas para *outliers* no MorphoJ.

Durante as análises interespecíficas, a variação do tamanho do crânio entre as diferentes espécies foi testada realizando uma ANOVA sobre os valores dos tamanhos dos centróides log-transformados (logCS). Optou-se por usar a tranformação desses valores em log por causa da considerável variação no tamanho craniano dentre os espécimes adultos, mesmo numa única espécie (KLINGENBERG, 2011).

Diante dessa reconhceida variação de tamanho, a falha em reconhecer modificações alométricas pode resultar em superestimar resultados numa análise filogenética (GANS; MONTERO, 2009). Assim, para verificar a real variação na morfologia craniana entre as espécies analisadas, primeiro foi feita uma regressão da variável forma (i.e., os valores das corrdenadas de Procrustes) sobre o tamanho (logCS). Os resultados dessa regressão foram utilizados para caracterizar a variação na forma relacionada ao tamanho craniano. Esse viés alométrico determinou o uso dos resíduos das regressões em todas as análises subsequentes (por exemplo, CVA) como um meio de corrigir a influência do tamanho do crânio nos dados de forma (KLINGENBERG, 2011).

A Análise de Componentes Principais (do ingês *Pincipal Component Analysis* – PCA) foi usada para ordenar os espécimes no espaço de forma (MONTEIRO; REIS, 1999; ZELDITCH et al., 2004) e identificar os vetores de maxima variância nos dados de forma. Como a PCA não é considerada, por si só, um teste estatístico de significância (WEBSTER; SHEETS, 2010), a significância estatística das diferenças morfológicas cranianas entre as espécies foi acessada usando a Análise de Variáveis Canônicas (do inglês *Canonical Variate Analysis* – CVA) a partir dos valores residuais da regressão entre forma e tamanho feita anteriormente.

Todos os procedimentos inerentes à técnica de Morfometria Geométrica 2-D foram feitos no *software* MorphoJ (KLINGENBERG, 2011). Os gráficos de dispersão e variação de forma foram otimizados pelos *softwares* PAST (HAMMER et al., 2001) e GIMP (disponível em https://www.gimp.org/). As mudanças de forma foram descritas observando os principais eixos de variação e representadas por *wireframes* (VISCOSI; CARDINI, 2011).

No que se refere às análises biogeográficas, a ampla distribuição do gênero *Leposternon* na América do Sul (RIBEIRO et al., 2015) levou a investigar se o tamanho e a forma do crânio variam sistematicamente ao longo da latitude e longitude, uma vez que ambos os parâmetros são considerados comumente correlacionados com variações climáticas (veja CORTI et al., 1996; BARČIOVÁ et al., 2009; CÁCERES et al., 2013; MELORO et al., 2014). Para melhor compreender a influência do clima, 19 variáveis bioclimáticas foram testadas diretamente. Essas variáveis foram obtidas com uma resolução de 10 minutos de arco (~ 340 Km^2) através do WorldClim versão 2 (FICK; HIJMANS, 2017), após serem extraídas usando o ArcGIS Pro 2.1.3 (ESRI, 2018) (Tabela 2).

Tabela 2 – Variáveis Bioclimáticas segundo a WorldClim.

BIO1 = temperatura média anual
BIO2 = Intervalo médio diurno [Média mensal (máx temp - min temp)]
BIO3 = Isotermalidade (BIO2 / BIO7)
BIO4 = Sazonalidade da temperatura
BIO5 = Temperatura máxima do mês mais quente
BIO6 = Temperatura ínima do mês mais frio
BIO7 = Faixa anual de temperatura (BIO5-BIO6)
BIO8 = Temperatura média do trimestre mais úmido
BIO9 = Temperatura média do trecho seco
BIO10 = Temperatura média do trimestre mais quente
BIO11 = Temperatura média do trimestre mais frio
BIO12 = Precipitação anual
BIO13 = Precipitação do mês mais úmido
BIO14 = Precipitação do mês mais seco
BIO15 = Sazonalidade da precipitação
BIO16 = Precipitação do trimestre mais chuvoso

BIO17 = Precipitação do trimestre mais seco
BIO18 = Precipitação do trimestre mais quente
BIO19 = Precipitação do trimestre mais frio

Uma vez que o presente estudo envolve animais fossoriais, o principal tipo de solo de cada localidade de coleta dos espécimes analisados foi obtido através do Conjunto Mundial de Solos Harmonizados - Grupos Principais de Solo, do inglês *Harmonized World Soil Dataset – Major Soil Groups* (FAO / IIASA / ISRIC / ISS-CAS / JRC, 2009), extraído usando o ArcGIS Pro 2.1. 3. Os espécimes que não tinham informações sobre a localidade de coleta (*L. microcephalum* ZUFRJ 1514, 1282, 975 e *L. wuchereri* ZUFRJ 1555) foram excluídos dessas análises.

Regressões usando logCS como variável dependente e latitude e longitude, separadamente, como variáveis independentes foram executadas para verificar o grau de associação entre a variação de tamanho e a distribuição geográfica das espécies. Essa análise foi repetida usando as coordenadas de Procrustes como variáveis dependentes para verificar a influência da latitude e longitude na variação da forma.

Uma análise de dois blocos de Mínimos Quadrados Parciais (do inglês *two-block Partial Last Squares* – PLS) (ROHLF; CORTI, 2000) foi realizada no MorphoJ para testar uma possível relação entre o ambiente e a forma do crânio. As variáveis de forma (coordenadas de Procrustes) constituíram o Bloco 1 e as 19 variáveis bioclimáticas constituíram o Bloco 2, seguindo Meloro et al. (2014). Ambos os blocos são ponderados igualmente nos modelos PLS. Esta extrai vetores da matriz de correlação de cada bloco para que o grau de co-variação entre os blocos seja maximizado. Enquanto este estudo é o primeiro do tipo em anfisbenas, tal técnica é padrão em aplicações morfométricas geométricas que testam a associação entre a forma do crânio e variáveis ambientais em mamíferos (cf. CÁCERES et al., 2013; MELORO et al., 2014; BUBADUÉ et al., 2016).

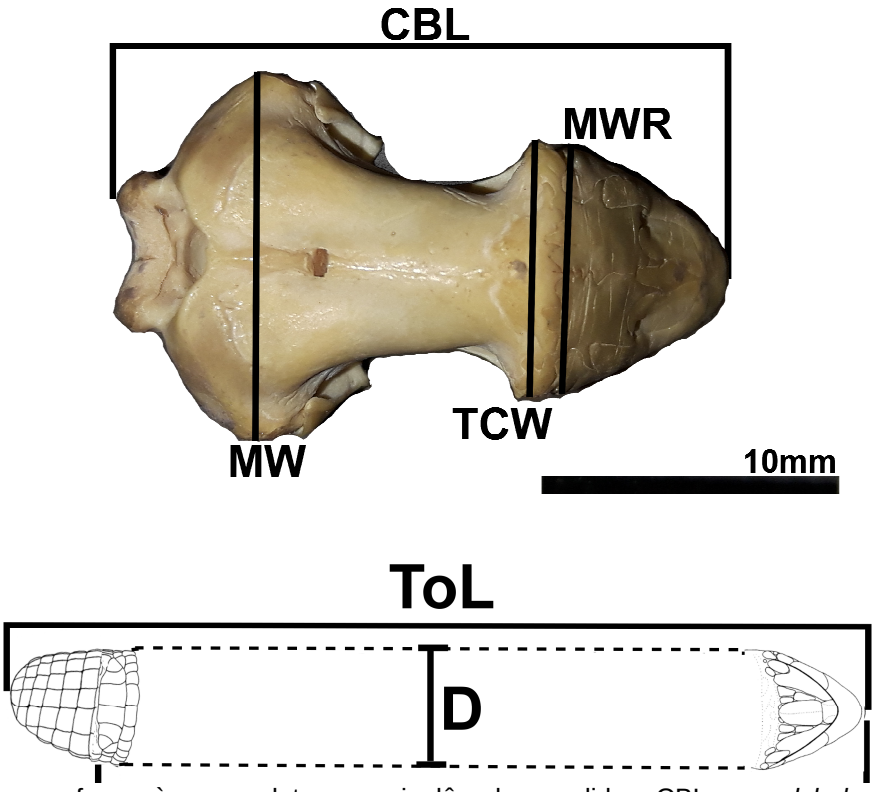
Antes dessa análise, as variáveis ambientais foram log-transformadas para padronizar os valores (KLINGENBERG, 2011). Os escores do eixo “PLS1 Shape” foram analisados pela análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis, seguida do teste par-par de Mann-Whitney para verificar diferenças entre as espécies de *Leposternon* ao longo do gradiente ambiental. Os escores do eixo

“PLS1 Climate” foram usados em regressões com latitude e longitude para verificar as possíveis correlações entre essas variáveis (veja CÁCERES et al., 2013).

3.3 **Análises de Morfometria Tradicional**

Para verificar variações corporais e cranianas relacionadas com a biomecânica da escavação entre duas espécies simpátricas, medidas corporais foram tomadas usando uma fita métrica (em escala de milímetros), enquanto medidas cranianas foram aferidas com um paquímetro digital (modelo Pro-Max, Fowler-NSK com precisão de 0,01 mm). As medidas cranianas foram: o comprimento côndilo-basal; a largura maxima do crânio, situada na região occipital na altura das cápsulas óticas; a largura da crista transversal; e a largura maxima da região rostral (Figura 25). As medidas corporais incluíram: o comprimento total do corpo e o seu diâmetro na posição medial (Figura 25). A terminologia das estruturas cranianas segue Gans & Montero (2009). As medidas cranianas dos indivíduos vivos foram tomadas usando imagens de Raio-X através do *software* Tracker versão 4.96. A distância entre as marcações de chumbo presentes na parede do terrário usado para as filmagens do comportamento locomotor (descrita em detalhes adiante) foi usada como escala de referência (5 cm). Para essa amostra não foi possível tomar medidas da largura da crista tranversal e da largura maxima da região rostral.

Figura 25 – Vista dorsal de um crânio de *Leposternon microcephalum* e medidas aferidas.



Legenda: As siglas se referem à nomenclatura, em inglês, das medidas: CBL = *condylo-basal length* (comprimento côndilo-basal); MW = *maximum width* (largura máxima); TCW = *transverse crest width* (largura da crista transversal); MWR = *maximum width of the rostral region* (largura máxima da região rostral); ToL = *total length* (comprimento total); D = *diameter* (diâmetro). A escala presente na imagem se refere ao crânio

Fonte: A imagem referente às medidas cranianas foi modificada de Hohl et al. (2017), artigo publicado oriundo da presente tese.

As distribuições de frequência das variáveis morfométricas foram testadas quanto à normalidade (T de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (Levene), bem como assimetria e curtose. Os testes U de Wilcoxon-Mann-Whitney foram usados para testar variações morfométricas intra- e interespecíficas entre espécimes de *L. scutigerum* e *L. microcephalum* comparando as medidas do corpo e do crânio.

As comparações entre as espécies foram realizadas por meio da Análise de Componentes Principais (PCA) como método exploratório de dados, sobre os valores padronizados das variáveis originais que demonstraram ser relevantes (comprimento total do corpo, diâmetro, comprimento côndilo-basal e largura maxima do crânio), para verificar suas tendências de variação e a distribuição dos grupos em

seu espaço morfológico multivariado. As análises estatísticas foram realizadas com o *software* Statistica versão 8.0 (STATSOFT, 2008).

3.4 **Captura e análise dos dados de locomoção**

Oito indivíduos adultos do gênero *Leposternon* provenientes da cidade do Rio de Janeiro foram analisados (*L. microcephalum* N = 7; *L. scutigerum* N = 1). Os dados referentes à *Leposternon scutigerum* foram aqui apresentados de forma inédita. Os indivíduos de *L. microcephalum* foram coletados, registrados e analisados por Hohl et al. (2014). Este estudo de comportamento locomotor foi aprovado pelo Comitê de Ética para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes (CUAE / IBRAG / 015/2017).

O comportamento locomotor dos exemplares foi registrado usando a técnica de videofluoroscopia, descrita anteriormente. Esta vem sendo utilizada em estudos comportamentais de espécies fossorias de Amphisbaenia (BARROS-FILHO et al., 2008; HOHL et al., 2014) e Gymnophiona (SUMMERS; O'REILLY, 1997; MEASEY; HERREL, 2006, HERREL; MEASEY, 2010, 2012).

Antes das filmagens, *L. scutigerum* foi mantido em ambiente laboratorial no Laboratório de Zoologia de Vertebrados –Tetrapoda (LAZOVERTE), Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), nas mesmas condições apresentadas por Hohl et al. (2014), i. e., mantidos numa caixa de plástico contendo solo úmido e rico em humus, e alimentado com minhocas uma vez por semana.

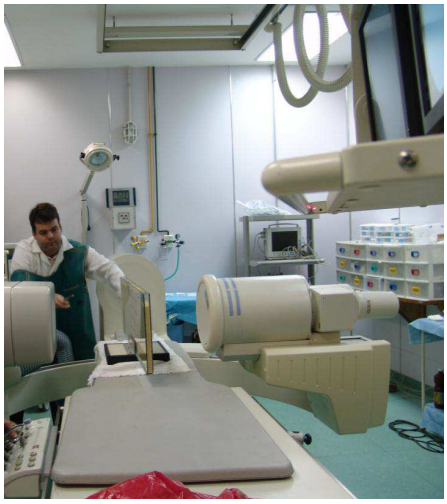
As imagens em Raios-X foram feitas no Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE/UERJ), Rio de Janeiro, com uma máquina de videofluoroscopia Toshiba (Toshiba Ultimax de Toshiba Medical Systems) que filma a 30 *frames* (quadros) por segundo, calibrada em 200 µA e 40 kV.

Seguindo o procedimento padrão proposto por Hohl et al. (2014), *L. scutigerum* foi colocado em um terrário de vidro de dimensões 100 X 35 X 2,5 cm (comprimento, altura, largura); preenchido com semolina (material não rádio-opaco e ingrediente culinário usado para fazer cuscuz marroquino) seca e grãos soltos; e com marcações de chumbo coladas na face externa da parede do terrário distando 5 cm uma das outras, de modo a formar 4 linhas horizontais e 6 linhas verticais. O

terrário foi colocado cerca de um metro de distância da câmera de videofluoroscopia (Figura 26).

O animal foi introduzido várias vezes no terrário e estimulado a se movimentar tocando-se a ponta da cauda para seus movimentos serem registrados. As filmagens também foram feitas com alguns espaços de tempo para evitar ao máximo o estresse do animal filmado. Durante as filmagens foram tomadas medidas de biossegurança para a proteção dos pesquisadores como o uso de colete de chumbo, um equipamento de proteção individual comum em procedimentos com uso de Raios-X. Após as filmagens, o animal foi devolvido ao seu ambiente natural.

Figura 26 – Aparelho de fluoroscopia, da marca Toshiba, pertencente ao serviço de Radiologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto, Rio de Janeiro.



Um total de tempo de filmagem de 7 minutos e 40 segundos contendo 32 sequências de movimentos escavatórios de *L. scutigerum* foram analisadas quadro a quadro usando o *software* Toshiba Daicom Viewer. O padrão escavatório foi analisado levando-se em consideração os detalhes das posturas corporais e os movimentos executados. O desempenho locomotor foi avaliado através de dados da distância percorrida (distância entre uma das marcações de chumbo sobre o vidro do terrário e a extremidade do focinho); duração do movimento (multiplica-se o número de quadros observados num ciclo por 0,033 s, uma vez que a 30 quadros por segundo tem-se 0,033 segundos entre um quadro e outro); velocidade ($v = f \times \Delta d$, onde v = velocidade, f = frequência, Δd = variação da distância percorrida); e a frequência com que os ciclos escavatórios são executados ($f = 1 / t$, onde t = tempo gasto para realizar um ciclo escavatório). Um ciclo escavatório é o conjunto de

movimentos que o animal faz durante seu deslocamento através do substrato, definido resumidamente como: 1) posição estática inicial; 2) momento de flexção da cabeça para baixo e retração do corpo para trás; 3) momento de elevação da cabeça e avanço do corpo para frente; 4) retorno à posição estática inicial (BARROS-FILHO et al., 2008).

Apesar de os indivíduos do gênero *Leposternon* compartilharem o mesmo padrão craniano, forma-de-pá de superfície côncava, o presente estudo considerou duas espécies diferentes, *L. microcephalum* e *L. scutigerum*. Assim, o padrão e o desempenho escavatório exibido por *L. scutigerum* (N = 37 ciclos) foi determinado e comparado de forma interespecífica com o padrão trifásico exibido por *L. microcephalum* (N = 32 ciclos), de acordo com Barros-Filho et al. (2008) e Hohl et al. (2014). Este padrão trifásico é o mesmo descrito no final do parágrafo anterior, sendo chamado trifásico devido aos momentos de movimento efetivos das etapas 2, 3 e 4.

O reduzido tamanho amostral impediu comparações estatísticas interespecíficas mais abrangentes. Portanto, avaliou-se o grau de variação observado nas filmagens entre os indivíduos registrados como ponto de partida para estimar possíveis diferenças entre o desempenho locomotor em *L. scutigerum* e *L. microcephalum*. Os três ciclos escavatórios mais rápidos (i. e. em que os animais atingiram as maiores velocidades) realizados por cada indivíduo (N = 7 indivíduos de *L. microcephalum*, portanto N = 21 ciclos escavatórios; N = 1 indivíduo de *L. scutigerum*, portanto N = 3 ciclos escavatórios) foram quantificados de acordo com os parâmetros locomotores propostos.

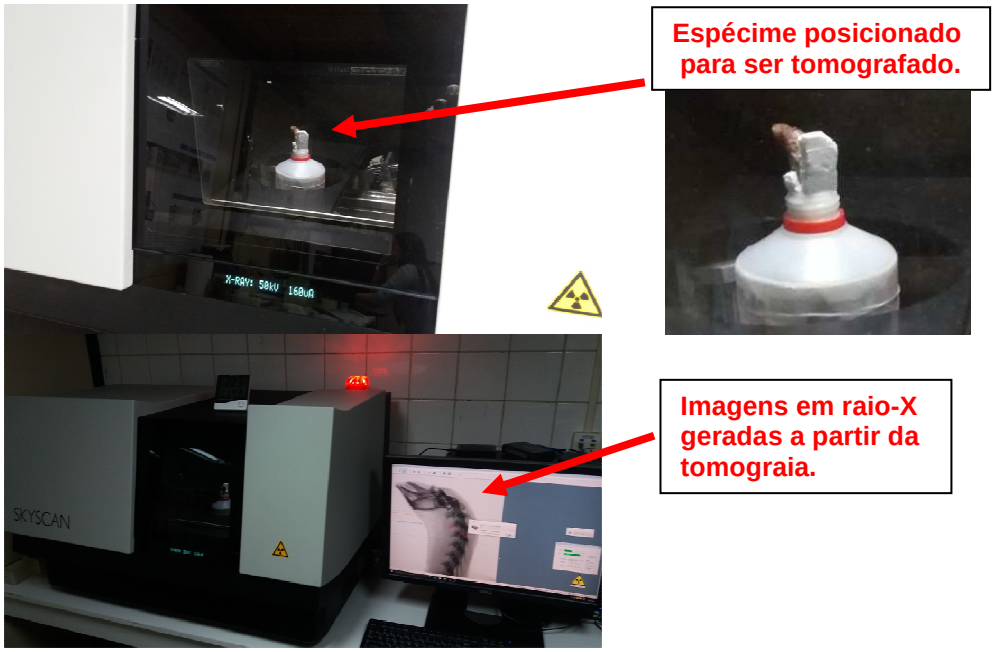
Uma vez determinados os dados morfométricos e locomotores, a influência das variações morfológicas no desempenho locomotor foi acessada através de Regressões Lineares Múltiplas. A velocidade, expressando o grau de especialização para construção das galerias (GANS, 1978), foi usada como variável dependente para fazer a regressão contra medidas do corpo e do crânio consideradas importantes para a capacidade de escavação de acordo com Gans (1974) e Navas et al. (2004): comprimento total do corpo e o diâmetro, e a largura máxima do crânio (variáveis independentes). As análises foram feitas no *software* Statistica versão 8.0 (STATSOFT, 2008) primeiramente somente com os indivíduos de *L. microcephalum* e depois repetidas acrescentando o indivíduo de *L. scutigerum*.

3.5 **Reconstrução tridimensional do esqueleto de** *Leposternon microcephalum*

Através de microtomografia computadorizada de Raios-X (µTC) foi feita a reconstrução tridimensional do esqueleto de um exemplar fixado de *L. microcephalum* (Coleção herpetológica da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, UERJ 710), proveniente da cidade do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. O espécime foi digitalizado no Laboratório de Instrumentação Nuclear (LIN) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) usando um microtomógrafo modelo SkyScan 1173.

A fonte de Raios-X operou à 50 kV e 160 µA. A distância fonte-objeto foi de 115,42 mm. O conjunto de dados consiste em 2.055 fatias de tomografia computadorizada de Raios-X de alta resolução, tomadas ao longo de um eixo oblíquo da porção anterior do corpo do animal, da ponta do focinho até a 7ª vértebra (Figura 27). Cada imagem das fatias foi reunida em resolução de 2240 X 2240 pixels, e representa uma espessura e um espaçamento de 15,67 µm.

Figura 27 – Procedimento de microtomografia computadorizada de Raios-X (µTC), realizado Laboratório de Instrumentação Nuclear da Universidade Federal do Rio de Janeiro.



A recontrução tridimensional dos ossos, “renderização”, com base nas fatias geradas, foi feita no *software* Mimics™ 9.0 (Materialise NV Technologielaan, Leuven,

Belgium, 2010). Os arquivos foram salvos no formato OBJ conhecido como *Object File Wavefront* 3D, e então transformados em STL (do inglês - *Standard Tessellation Language*) compatível com o *softwrare* onde foi feita a animação do esqueleto.

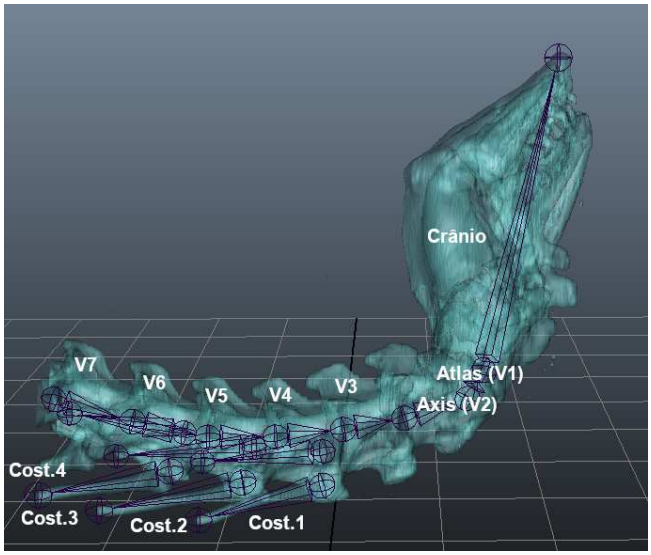
3.6 **Animação** *in silico* **do ciclo escavatório de** *Leposternon microcephalum*

Esta etapa foi feita através do *software* Autodesk Maya versão 2012 (Autodesk, Inc.), seguindo os princípios básicos da técnica de Rotoscopia Científica descrita anterioermente (GATESY; ALENGHAT, 1999; GATESY et al., 2004, 2007).

Inicialmente foi gerado um esqueleto de animação denominado *rigging*, o qual é utilizado para controlar os movimentos do modelo virtual, possibilitando reconstruir o padrão de escavação exibido por *L. microcephalum*. Este é composto de um conjunto de cadeias articulares que possuem um sistema de hierarquia de movimento. Assim, a chamada articulação-mãe influencia a movimentação das que são consideradas articulações-filhas, que também podem ter movimentos independentes (LOGUERCIO, 2010; SANTOS, 2013; CHAGAS, 2016). Além destas, o esqueleto de animação também possui a articulação-raiz que é a primeira articulação na hierarquia do esqueleto de animação, funcionando como seu centro de gravidade (CHAGAS, 2016).

Para criar o esqueleto de animação baseado no esqueleto real da porção anterior do corpo de *L. microcephalum*, foram gerados pontos de articulação respeitando as articulações reais. São elas: crânio – atlas; atlas – axis; axis – vértebra 3 (vért.3); vért.3 – vért.4; vért.4 – vért.5; vért.5 – vért.6; vért.7 – vért.8; costela 1 (cost.1) – vért.4; cost.2 – vért.5; cost.3 – vért.6; cost.4 – vért.7 (Figura 28).

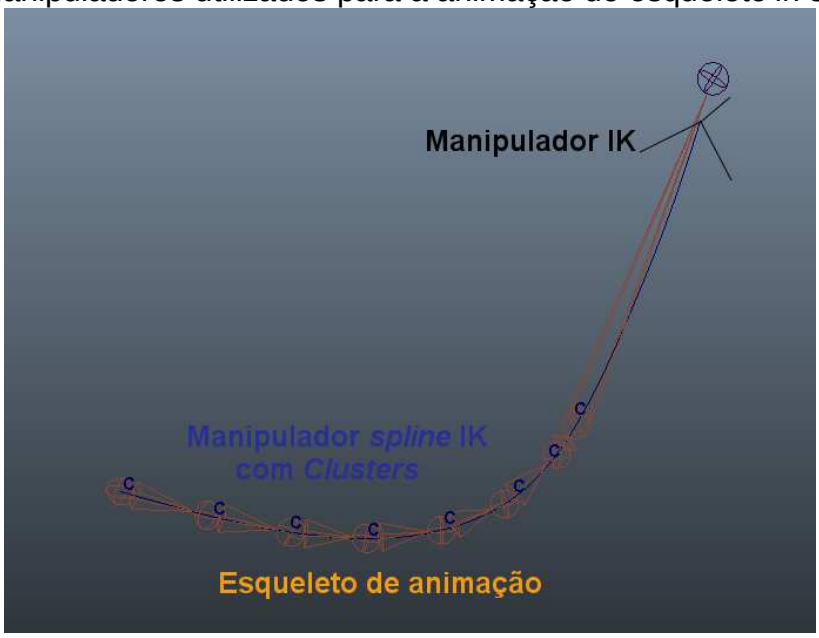
Figura 28 – Identificação dos pontos de articulação gerados para compor o esqueleto de animação (*rigging*) sobre o modelo 3D do esqueleto real de *L. microcephalum*.



Legenda: o esqueleto de articulação está representado em azul escuro, onde as esferas correspondem aos pontos de articulação e as estruturas piramidais aos ossos. V = vértebra e Cost. = Costela.

A partir do recurso *kinematics* (cinemática), os movimentos das articulações foram determinados por manipuladores FK (*forward kinematics*), IK (*inverse kinematics*) e *spline* IK por *clusters* (vértices de curva) (Figura 29).

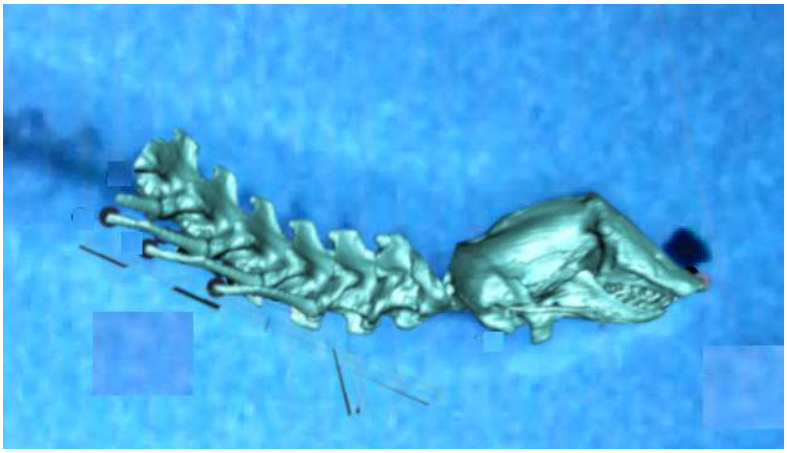
Figura 29 – Manipuladores utilizados para a animação do esqueleto *in silico*.



Após construir o esqueleto de animação, uma filmagem em videofluoroscopia, contendo sequências dos ciclos escavatórios executados por *L. microcephalum*, foi selecionada de forma a capturar o conjunto de imagens que compõem a execução de um ciclo escavatório. Essas foram capturadas a cada três *frames*, totalizando 16 imagens para reresentar um ciclo escavatório completo.

Então, as imagens foram importadas para o *software* Autodesk Maya e o esqueleto de animação foi posicionado, de acordo com as imagens em Raio-X do movimento do ciclo escavatório de *L. microcephalum*, conferindo maior confiabilidade no posicinnamento do esqueleto de animação em relaçao ao esqueleto do animal, durante a execução do ciclo escavatório (Figura 30). Com o esqueleto de animação pronto e posicionado, este foi associado ao modelo tridimensional do esqueleto real, importado no formato STL, que então é animado.

Figura 30 – Posicionamento do modelo 3D do esqueleto real de *L. microcephalum* sobre a imagem proveniente da videofluoroscopia (Rotoscopia Científica).



Segundo informações presentes na literatura sobre a musculatura envolvida no processo de movimentos escavatórios de anfisbenas, os grupos musculares da região anterior, possivelmente envolidos no processo de escvação, foram representados e inseridos manualmete sobre o esqueleto tridimensional de *L. microcephalum*. Assim, foi representado o grupo muscular da parte ventral, relacionado com a flexão da cabeça [*Musculus longus colli*, *M. longus capitis*, *M. rectus capitis anterior* e *M. rectus capitis lateralis* (MONTERO et al. 2017)], o grupo muscular da parte dorsal, relacionado com a elevação da cabeça [*M. longissimus*

dorsi (NAVAS et al, 2004)]; e o grupo da parte látero-ventral, relacionado com a movimentação das costelas durante o desclocamento [músculos costo-cutâneos superior e inferior (RENOUS, 1994)].

4 **VARIAÇÃO CRANIANA EM UM GÊNERO DE AMPHISBAENIA COM CABEÇA EM FORMA-DE-PÁ, INFERIDA A PARTIR DA ANÁLISE DE MORFOMETRIA GEOMÉTRICA DE CINCO ESPÉCIES SUL-AMERICANAS DE *Leposternon***

O presente estudo é apresentado em formato de artigo (ver Apêndice B) publicado no periódico *Journal of Morphology*, assim referenciado: Hohl, L.S.L.; Barros-Filho, J.D. & Rocha-Barbosa, O. (2018). *Skull variation in a shovel-headed amphisbaenian genus, inferred from the geometric morphometric analysis of five South American Leposternon species. Journal of Morphology*, 249: 1665–1678.

Amphisabenia é um grupo de répteis Squamata adaptado para um estilo de vida fossorial. O crânio é a sua principal ferramenta de escavação e pode apresentar uma das quatro formas principais. O padrão com cabeça em forma-de-pá é considerado a mais especializada para escavação. O gênero sul-americano *Leposternon* apresenta um morfotipo de cabeça em forma-de-pá e é amplamente distribuído neste continente. O padrão geral de crânio forma-de-pá pode variar consideravelmente, mesmo dentro do mesmo gênero, e foi levantada a hipótese de que essa variação pode ser influenciada principalmente pelo tamanho do corpo e fatores climáticos. Este estudo investigou a variação no tamanho e forma do crânio entre cinco espécies de *Leposternon*, e examinou a relação potencial entre esta variação e o tamanho dos espécimes e variáveis bioclimáticas, através de uma abordagem de morfometria geométrica. Variações morfológicas significativas foram encontradas entre as espécies, e também foram relacionadas sistematicamente ao tamanho do corpo e à distribuição geográfica dos espécimes. Como diferenças sutis no tamanho ou forma do crânio podem representar modificação significativa na força de mordida e de escavação e na velocidade de escavação, a variação craniana encontrada entre as espécies e espécimes de *Leposternon* pode influenciar diretamente sua dieta e desempenho locomotor. Nossos resultados, juntamente com observações diretas de algumas dessas espécies, sugerem que anfisbenas com cabeça em forma-de-pá podem ser capazes de penetrar em diferentes tipos de solo sob uma variedade de condições climáticas, especialmente considerando a ampla, mas frequentemente distribuição simpátrica das espécies aqui estudadas.

5 VARIAÇÕES MORFOMÉTRICAS NO CORPO E NO CRÂNIO ENTRE DUAS ESPÉCIES DE AMPHISBAENIA COM CABEÇA EM FORMA-DE-PÁ (REPTILIA: SQUAMATA) COM INFERÊNCIAS MORFOFUNCIONAIS SOBRE A ESCAVAÇÃO

O presente estudo é apresentado em formato de artigo (ver Apêndice C) publicado no periódico *PeerJ*, assim referenciado: Hohl, L.S.L.; Loguercio, M.F.C.; Sicuro, F.L.; Barros-Filho, J.D. & Rocha-Barbosa, O. (2017). *Body and skull morphometric variations between two shovel-headed species of Amphisbaenia (Reptilia: Squamata) with morphofunctional inferences on burrowing. PeerJ*, 5: e3581.

Descrições morfológicas comparando *Leposternon microcephalum* e *L. scutigerum* foram feitas em estudos prévios. No entanto, estes táxons não possuem uma caracterização morfológica quantitativa formal, e estudos comparativos sugerem que a morfologia e o desempenho de escavação estão relacionados. Os movimentos de escavação de *L. microcephalum* foram descritos em detalhe. No entanto, há uma falta de estudos comparando padrões locomotores e / ou desempenho entre diferentes anfisbenas compartilhando a mesma forma craniana. Este artigo apresenta o primeiro estudo de variações morfométricas comparativas entre duas espécies de Amphisbaenia, *L. microcephalum* e *L. scutigerum*, com inferências funcionais sobre a eficiência de locomoção fossorial.

Variações morfométricas interespecíficas foram verificadas por meio de análises estatísticas de medidas corporais e cranianas de espécimes de *L. microcephalum* e *L. scutigerum*. Suas atividades de escavação foram avaliadas por videofluoroscopia de Raios-X e comparadas. A influência da variação morfológica na velocidade de escavação foi testada entre os indivíduos de *Leposternon*.

Leposternon microcephalum e *L. scutigerum* são espécies distintas morfometricamente. O primeiro é mais curto e robusto com uma cabeça mais larga enquanto o outro é mais alongado e magro com uma cabeça mais estreita. Eles compartilham os mesmos movimentos de escavação. Os animais analisados atingiram velocidades relativamente altas, mas indivíduos com crânios mais estreitos

cavaram mais rápido. Uma correlação negativa entre a velocidade e a largura do crânio foi determinada, mas não com o comprimento total ou diâmetro do corpo.

As diferenças morfométricas entre *L. microcephalum* e *L. scutigerum* estão de acordo com as variações morfológicas descritas anteriormente. Como essas espécies realizaram o mesmo padrão de escavação, podemos inferir que anfisbenas intimamente relacionados com o mesmo tipo de crânio exibem o mesmo padrão escavatório. A correlação negativa entre a largura da cabeça e a velocidade de escavação também é observada em outros escamados fossoriais. A robustez do crânio também está relacionada à força de compressão em *L. microcephalum*. Indivíduos com cabeças mais largas são mais fortes. Assim, sugere-se *trade-offs* (compensação) entre a velocidade de escavação e a força de compressão durante a escavação nesta espécie.

6 *Leposternon microcephalum* (REPTILIA: SQUAMATA: AMPHISBAENIA) COMO MODELO PARA RECONSTRUIR O PADRÃO DE ESCAVAÇÃO EM "PÁ" NO AMBIENTE VIRTUAL

O presente estudo é apresentado em formato de artigo (ver Apêndice D) submetido para publicação no periódico *Journal of Experimental Biology*, intitulado "*Leposternon microcephalum (Reptilia: Squamata: Amphisbaenia) as a model to reconstruct the "shovel" excavation pattern in the virtual ambiance*".

Há uma clara progressão das técnicas utilizadas nos estudos de locomoção fossorial, mais especificamente em *Leposternon microcephalum*. Ao longo dos anos, o comportamento locomotor desta espécie tem sido descrito a partir de diferentes perspectivas, como: observação visual, filmagem externa do corpo e videofluoroscopia. Em cada técnica utilizada, as descrições de seu comportamento de escavação vêm ganhando novos detalhes que ajudam na compreensão do estilo de vida dessa espécie no ambiente subterrâneo. Aqui nós geramos um modelo tridimensional da porção anterior do esqueleto de *L. microcephalum*. Em seguida, este foi animado usando a técnica de Rotoscopia Científican, que consiste em usar imagens de imagens de Raios-X para posicionar o esqueleto 3D e reproduzir o seu movimento, neste caso o ciclo escavatório. A simulação do comportamento de escavação de *L. microcephalum* no ambiente virtual (*in silico*) usando a Rotoscopia Científica possibilitou incrementar os estudos de sua biomecânica com recursos mais sofisticados. Uma novidade foi observar a participação efetiva das costelas durante os movimentos de escavação, que está de acordo com descrições prévias para a locomoção retilínea em serpentes.

CONCLUSÕES GERAIS

1) Há variações morfológicas cranianas entre diferentes espécies do gênero *Leposternon*. Isto significa dizer que, dentro de um mesmo morfotipo craniano, neste caso forma-de-pá, existem submorfotipos.
2) A forma do crânio em *Leposternon* varia sob influência tanto do tamanho do crânio quanto das condições climáticas (mais especificamente aquelas que atuam diretamente sobre as propriedades físicas do solo, como a temperatura e quantidade de chuvas), de acordo com a distribuição geográfica dos espécimes.
3) Como diferenças sutis no tamanho ou forma do crânio podem representar modificação significativa na força de mordida e de escavação e na velocidade de escavação, a variação craniana encontrada entre as espécies e espécimes de *Leposternon* pode influenciar diretamente sua dieta e desempenho locomotor.
4) Anfisbenas do gênero *Leposternon*, que possuem a cabeça em forma-de-pá, podem ser capazes de penetrar em diferentes tipos de solo sob condições climáticas variadas.
5) A força de escavação sozinha não determina onde *Leposternon* pode ser encontrado, mas sim a profundidade que o indivíduo pode penetrar no solo, dado seu tipo ou condições bioclimáticas encontradas, em um local específico.
6) *Leposternon microcephalum* e *L. scutigerum* são espécies distintas morfométrica e morfologicamente e tais diferenças refletem desempenhos locomotores diferentes.
7) Com base na observação das duas espécies, objeto do estudo, e com o mesmo morfotipo craniano forma-de-pá, pode-se inferir que anfisbenas intimamente relacionados exibem o mesmo padrão escavatório.
8) *Leposternon microcephalum* e *L. scutigerum* atingem velocidades diferentes quando comparados, dentre os quais, indivíduos com crânios mais estreitos cavam mais rápido. Isto é, há uma correlação negativa entre a velocidade e a largura do crânio.

9) A robustez do crânio também está relacionada à força de compressão em *L. microcephalum*. Indivíduos com cabeças mais largas são mais fortes. Assim, sugere-se compensação (*trade-offs*) entre a velocidade de escavação e a força de compressão, nesta espécie.
10) A Rotoscopia Científica possibilitou incrementar os estudos biomecânicos de *L. microcephalum*, evidenciando a participação efetiva das costelas durante os movimentos escavatórios.

Desta forma, podemos afirmar que a confiabilidade e a complexidade das descrições das variações cranianas e do comportamento e desempenho locomotor, aumentam de acordo com a utilização de técnicas e métodos inovadores. De fato, essa é uma característica da ciência uma vez que através do conhecimento científico novas tecnologias são desenvolvidas e essas, por sua vez, permitem fazer novas observações e incrementar ainda mais a produção do conhecimento científico, numa dinâmica de “retroalimentação”.

REFERÊNCIAS

ADAMS, D.C.; ROHLF, F.J.; SLICE, D.E. Geometric morphometrics: ten years of progress following the ‘revolution’. *Ital. J. Zool.*, v. 71, n. 1, p. 5–16, 2004.

ALEXANDER, R.M. *Elastic mechanisms in animal movement*. Cabmridge: Cabmridge University Press, 1988.

ALEXANDER, R.M. *Principles of animal locomotion*. Princeton University Press. 384 p, 2003

ALMEIDA, C.X. *Funções de pedotransferência para a curva de resistência do solo à penetração.* 34f. Dissertação de mestrado - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, São Paulo, 2008.

AL-SADOON, M.K. Survey of the reptilian fauna of the Kingdom of Saudi Arabia. II. The lizard and amphisbaenian fauna of Riyadh province. *Bull. Md. Herpetol. Soc.*, n. 24, p. 58–76, 1988.

BAECKENS, S.; GARCÍA-ROA, R.; MARTÍN, J.; ORTEGA, J.; HUYGHE, K.; VAN DAMME, R. Fossorial and durophagous: implications of molluscivory for head size and bite capacity in a burrowing worm lizard. *J. Zool.*, v. 301, p. 193–205, 2017.

BAPTISTA, G.C.S.; NETO, E.M.C.; VALVERDE, M.C.C. Diálogo entre concepções prévias dos estudantes e conhecimento científico escolar: relações sobre os Amphisbaenia. *RIE*, n. 47/2, 2008.

BARBO, F.E.; MARQUES, O.A. Do aglyphous colubrid snakes prey on live amphisbaenids able to bite? *Phyllomedusa*, v. 2, n. 2, p. 113–114, 2003.

BARČIOVÁ, L.; ŠUMBERA, R.; BURDA, H. Variation in the digging apparatus of the subterranean silvery mole-rat, *Heliophobius argenteocinereus* (Rodentia, Bathyergidae): the role of ecology and geography. *Biol. J. Linn. Soc.,*v. 97, p. 822–831, 2009.

BARROS-FILHO, J.D. *Distribuição e análise morfológica do gênero Leposternon Wagler, 1824 no Estado do Rio de Janeiro, Brasil (Reptilia, Amphisbaenia).*

Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1994.

BARROS-FILHO, J.D. *Osteologia Craniana Comparada de Espécies do Gênero Leposternon Wagler, 1824 (Reptilia, Amphisbaenia).* vol. I, 138f, vol. II, 107f. Tese de Doutorado - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

BARROS-FILHO, J.D.; VALVERDE, M.C.C. Notas sobre os Amphisbaenia (Reptilia, Squamata) da microrregião de Feira de Santana, estado da Bahia, Brasil. *Sitientibus,* v. 14, n. 57–68, 1996.

BARROS-FILHO, J.D.; HOHL, L.S.L.; ROCHA-BARBOSA, O. Excavatory cycle of *Leposternon microcephalum* Wagler, 1824 (Reptilia, Amphisbaenia). *International J. Morphol.*, v. 26, p. 411–414, 2008.

BARROS-FILHO, J.D.; FREITAS, M.A.D.; SILVA, T.F.S.; VALVERDE, M.C.C.; LOGUERCIO, M.F.C.; VERÍSSIMO, D. On the distribution and ecology of *Leposternon octostegum*: Putting a subterranean reptile species on the map. *Wildl. Biol. Pract.*, v. 9, n. 1, p. 1–6, 2013.

BOOKSTEIN, F.L. *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*. Cambridge: Cambridge University Press, 1991.

BOOKSTEIN, F.L. Landmark methods for forms without landmarks: Morphometrics of group differences in outline shape. *Med. Im. Anal.*, v. 1, p. 225–243, 1997.

BUBADUÉ, J.M.; CÁCERES, N.; DOS SANTOS CARVALHO, R.; MELORO, C. Ecogeographical variation in skull shape of South-American canids: abiotic or biotic processes? *Evol. Biol.*, v. 43, p. 145–159, 2016.

CACCIALI, P.; WÜEST, U. Reptilia, Squamata, Colubridae, *Lygophis meridionalis*: type locality. *Check List*, v. 5, n. 3, p. 383–385, 2009.

CACCIALI, P.; CABRAL, H.; FERREIRA, V.L.; KÖHLER, G. Revision of *Philodryas mattogrossensis* with the revalidation of *P. erlandi* (Reptilia: Squamata: Dipsadidae). *Salamandra*, v. 52, n. 4, p. 293–305, 2016.

CÁCERES, N.; MELORO, C.; CAROTENUTO, F.; PASSARO, F.; SPONCHIADO, J.; MELO, G.L.; RAIA, P. Ecogeographical variation in skull shape of capuchin monkeys. *J. Biogeogr.*, v. 41, p. 501–512, 2013.

CHAGAS, K.S.C. Desempenho loomotor, reconstrução osteológica e biomecânica do movimento de Dolichotis patagonum, Zimmermann, 1780 (Rodentia, Caviidae). 179f. Dissertação de Mestrado – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

COLLI, G.R.; ZAMBONI, D.S. Ecology of the worm-lizard *Amphisbaena alba* in the Cerrado of Central Brazil. *Copeia,* p. 733–742, 1999.

COLLI, G.R.; FENKER, J.; TEDESCHI, L.G.; BARRETO-LIMA, A.F.; MOTT, T.; RIBEIRO, S.L. In the depths of obscurity: Knowledge gaps and extinction risk of Brazilian worm lizards (Squamata, Amphisbaenidae). *Biol. Cons.*, v. 204, p. 51–62, 2016.

CORTI, M.; FADDA, C.; SIMSON, S.; NEVO, E. Size and shape variation in the mandible of the fossorial rodent *Spalax ehrenbergi*. In: MARCUS, L.F.; CORTI, M.; LOY, A.; NAYLOR, G.J.; SLICE, D.E. Eds. *Advances in Morphometrics*. Boston: Springer, 1996. p. 303–320.

COSTA, M.M.B. Videofluoroscopia: método radiológico indispensável para a prática médica. *Radiol. Bras.*, v. 43, n. 2, p. 7–8, 2010.

COSTA, M.M.B.; LEOCADIO, J.L.; CARLOS, M.T., et al. Videofluoroscopia: um novo método. *Radiol. Bras.,* v. 25, p.11–8, 1992.

DOBBERT, T. *Matchmoving: the invisible art of camera tracking.* Alameda, CA: Sybex, 2005.

DUARTE, J. 2010. *Amphisbaena scutigerum*. The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T176241A7202949. http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-4.RLTS.T176241A7202949.en. Acesso em 07 dezembro, 2015.

ESRI. ArcGIS Pro 2.1.3. Acessado em http://pro.arcgis.com/en/pro-app/, 2018.

FAO/IIASA/ISRIC/ISS-CAS/JRC. Harmonized World Soil Database (version 1.1). FAO, Rome, Italy and IIASA, Laxenburg, Austria (disponível em http://www.iiasa.ac.at/Research/LUC/luc07/External-World-soil-database/HTML/index.html?sb=1), 2009.

FERNANDES, J.S.; APPOLONI, C.R.; FERNANDES, C.P. Determinação de parâmetros microestruturais e reconstrução de imagens 3-D de rochas reservatório por microtomografia de raios X. *Rev. Ciênc. Exatas Nat.*, v. 11, n. 1, p. 35–47, 2009.

FICK, S.E.; HIJMANS, R.J. WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *Int. J. Climatol.*, v. 37, p. 4302–4315, 2017.

GANS, C. Studies on amphisbaenids (Amphisbaenia, Reptilia). 1. A taxonomic revision of the Trogonophinae and a functional interpretation of the amphisbaenid adaptive pattern. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, v. 119, p. 129–204, 1960.

GANS, C. Relative success of divergent pathways in amphisbaenian specialization. *Am. Nat.*, v. 102, n. 926, p. 345–362, 1968.

GANS, C. Amphisbaenians, reptiles specialized for a burrowing existence. *Endeavour*, v. 28, p. 146–151, 1969.

GANS, C. Studies on amphisbaenians (Amphisbaenia, Reptilia). 4, A review of the amphisbaenid genus *Leposternon*. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, v. 144, p. 381–464, 1971.

GANS C. Locomotion and burrowing in limbless vertebrates. *Nature*, v. 242, p. 414–415, 1973.

GANS, C. *Biomechanics - an Approach to Vertebrate Biology.* Philadelphia: J. B. Lippincott, 1974.

GANS, C. Aspects of the biology of uropeltid snakes. In: RUSSELL, A.P. (Ed.) *Morphology and biology of reptiles*, 1976. p. 191-204.

GANS, C. The biologial roles of taxonomic characteristics utilised in amphisbaenian classification. *J. Herpetol.*, v. 5, n. 8, p. 611–615, 1977.

GANS, C. The characteristics and affinities of the Amphisbaenia. *Trans. Zool. Soc. Lond.*, v. 34, p. 347–416, 1978.

GANS, C. Checklist and bibliography of the Amphisbaenia of the world. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, v. *289*, p. 1–130, 2005.

GANS, C.; MONTERO, R. An Atlas of Amphisbaenian Skull Anatomy. In: Adler, K. (Ed.). *Biology of Reptilia.* New York: Society for the Study of Amphibians and Reptiles, 2009. p. 621–738.

GATESY, S.M.; ALENGHAT, T. A 3-D computer-animated analysis of pigeon wing movement. *Am. Zool.*, v. 39, p. 104A, 1999.

GATESY, S.M.; DIAL, K.P.; JENKINS, F.A. An inside look at skeletal motion in flying birds. *J. Vert. Paleontol.*, v. 24, p. 63A, 2004.

GATESY, S.M.; BAIER, D.B.; JENKINS, F.A.; DIAL, K.P. Scientific rotoscoping: a morphology-based method of 3D-motion analysis and visualization. *J. Morphol.*, v. 268, p. 1076, Resumo, 2007.

GATESY, S.M.; BAIER, D.B.; JENKINS, F.A.; DIAL, K.P. Scientific rotoscoping: a morphology-based method of 3-D motion analysis and visualization. *J. Exp. Zool. A Ecol. Genet. Physiol.*, v. 313, n. 5, p. 244–261, 2010.

GAUTHIER, J.A.; KEARNEY, M.; MAISANO, J.A.; RIEPPEL, O.; BEHLKE, A.D. Assembling the squamate tree of life: perspectives from the phenotype and the fossil record. *Bull. Peabody Mus. Nat. Hist.*, v. 53, p. 3–308, 2012.

GAYMER R. New method of locomotion in limbless terrestrial vertebrates. *Nature,* v. 234, p. 150–151, 1971.

GOELDI, E. Lagartos do Brasil. *Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi*, n. 3, p. 499–560, 1902.

GOMES, J.O.; MACIEL, A.O.; COSTA, J.C.; ANDRADE, G.V. Diet composition in two sympatric amphisbaenian species (*Amphisbaena ibijara* and *Leposternon polystegum*) from the Brazilian Cerrado. *J. Herpetol.*, v. 43, p. 377–384, 2009.

GONÇALVES-DIAS, A.; BARROS-FILHO, J.D. Correlação entre *Leposternon* (Reptilia: Amphisbaenia) e os solos do Estado do Rio de Janeiro. Em trabalho apresentado no *Congresso Latino-Americano de Zoologia, XII Congresso Brasileiro de Zoologia*, 1992. v. 19, p. 189.

GORZULA, S.; SALAZAR, C.; RENDON, D. Aspects of the ecology of *Amphisbaena alba* Linnaeus in the Venezuelan Guayana. *J. Herpetol.*, v. 5, p. 623–626, 1977.

GREENE, H.W. Dietary correlates of the origin and radiation of snakes. *Am. Zool.*, v. 23, p. 431–441, 1983.

GREENE, H.W. *Snakes - the evolution of mystery in nature*. University of California Press, 1997. 351p.

HAMMER, O.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.*, v. 4, n. 1, 2001.

HEDGES, S.B.; MAXSON, L.R. Re: Molecules and morphology in amniote phylogeny. *Mol. Phylogenet. Evol.*, v. 6, p. 312–314, 1996.

HEMBREE, D. I. Amphisbaenian paleobiogeography: Evidence of vicariance and geodispersal patterns. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.*, v. 235, p. 340–354, 2006.

HERREL, A.; MEASEY, G.J. The kinematics of locomotion in caecilians: effects of substrate and body shape. *J. Exp. Zool. A Ecol. Gen. Physiol.*, v. 313, n. 5, p. 301–309, 2010.

HERREL, A.; MEASEY, G.J. Feeding underground: kinematics of feeding in caecilians. *J. Exp. Zool. A Ecol. Gen. Physiol.*, v. 317, n. 9, 533–539, 2012.

HILDEBRAND, M. Analysis of tetrapod gaits: general considerations and symmetrical gaits. In: Herman, R. M.; Grillner, S.; Stein, P. S. G.; Stuart, D. G. (eds.) *Neural control of locomotion*. New York: Plenum Press, v. 18, p. 203-236, 1976.

HILDEBRAND, M.; GOSLOW, G.E. Correndo e saltando. In: Hildebrand, M.; Goslow, G. E. (aa.). *Análise da estrutura dos vertebrados*. São Paulo: Atheneu, p. 431-453, 2006.

HIPSLEY, C.A.; RENTINCK, M.N.; RÖDEL, M.O.; MÜLLER, J. Ontogenetic allometry constrains cranial shape of the head first burrowing worm lizard *Cynisca leucura* (Squamata: Amphisbaenidae). *J. Morphol.*, v. 277, p. 1159–1167, 2016.

HOHL, L.S.L., LOGUERCIO, M.F.C.; BUENDÍA, R.A.; ALMEIDA-SANTOS, M.; VIANA, L.A.; BARROS-FILHO, J.D.; ROCHA-BARBOSA, O. Fossorial gait pattern

and performance of a shovel-headed amphisbaenian. *J. Zool.*, v. 294, p. 234–240, 2014.

HOHL, L.S.L.; LOGUERCIO, M.F.C.; SICURO, F.L.; BARROS-FILHO, J.D.; ROCHA-BARBOSA, O. Body and skull morphometric variations between two shovel-headed species of Amphisbaenia (Reptilia: Squamata) with morphofunctional inferences on burrowing. *PeerJ,* v. 5, e3581, 2017.

HOHL, L.S.L.; BARROS-FILHO, J.D.; ROCHA-BARBOSA, O. Skull variation in a shovel-headed amphisbaenian genus, inferred from the geometric morphometric analysis of five South American Leposternon species. *J. Morphol.*, v. 279, n. 11, p. 1665-1678, 2018.

KAISER, P. Über die Fortbewegungsweise der Doppelschleichen - beobachtungen an *Leposternon microcephalus* (Wagl.). *Zool. Anz.*, v. 154*,* p. 61–69, 1955.

KALIONTZOPOULOU, A. Geometric morphometrics in herpetology: modern tools for enhancing the study of morphological variation in amphibians and reptiles. *Basic App. Herpetol.*, v. 25, p. 5–32, 2011.

KAZI, S.; HIPSLEY, C.A. Conserved evolution of skull shape in Caribbean head-first burrowing worm lizards (Squamata: Amphisbaenia). *Biol. J. Linn. Soc.*, v. 125, n. 1, p. 14–29, 2018.

KEARNEY, M. Systematics of the Amphisbaenia (Lepidosauria: Squamata) based on morphological evidence from recent and fossil forms. *Herpetol. Monogr.*, v. 17, p. 1–74, 2003.

KEARNEY, M.; STUART, B.L. Repeated evolution of limblessness and digging heads in worm lizards revealed by DNA from old bones. *Proc. R. Soc. Lond. B*, v. 271, p. 1677–1683, 2004.

KEARNEY, M.; MAISANO, J.A.; ROWE, T. Cranial anatomy of the extinct amphisbaenian *Rhineura hatcherii* (Squamata, Amphisbaenia) based on high-resolution X-ray computed tomography. *J. Morphol.*, v. 264, p. 1–33, 2005.

KERLOW, I.V. *The art of 3-D computer animation and imaging.* New York: Van Nostrand Reinhold, 1996.

KLINGENBERG, C.P. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Mol. Ecol. Resour.*, v. 11, p. 353–357, 2011.

LAINSON, R. Some coccidial parasites of the lizard *Amphisbaena alba* (Reptília: Amphisbaenia: Amphisbaenidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 98, n. 7, 2003.

LOBO-RIBIERO, L. *Considerações sobre os métodos empregados na análise dos padrões de locomoção quadrúpede em vertebrados terrestres*. Monografia - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

LOGUERCIO, M.F.C. Reconstrução tridimensional da locomoção em *Hydrochoerus hydrochaeris* (Linnaeus, 1766) (Rodentia, Caviidae). *Mastozool. Neotrop.*, v. 17, n. 2, p. 397–398, 2010.

LÓPEZ, P.; MARTÍN, J.; BARBOSA, A. State and morphological dependent escape decisions in a fossorial lizard. *J. Morphol.*, v. 232, n. 2, p. 289, 1997.

MACLEOD, N. Landmarks and semilandmarks: differences without meaning and meaning without difference. *Pal. Ass.*, v. 82, p. 32–43, 2013.

MAGWENE, P.M. Patterns of cranial growth in the worm-lizard, *Amphisbaena caeca*. *Am. Zool.*, v. 36, [Abstract 74A], 1997.

MAISANO, J. *Anops kingii* Digital Morphology em http://digimorph.org/specimens/Anops_kingii/, 2003a. acesso em 29 novembro, 2015.

MAISANO, J. *Geocalamus acutus* Digital Morphology em http://digimorph.org/specimens/Geocalamus_acutus/, 2003b. acesso em 29 novembro, 2015.

MAISANO, J. *Leposternon microcephalum* Digital Morphology em http://digimorph.org/specimens/Leposternon_microcephalum/, 2003c. acesso em 29 novembro, 2015.

MAISANO, J.A.; KEARNEY, M.; ROWE, T. Cranial anatomy of the spadeheaded amphisbaenian *Diplometopon zarudnyi* (Squamata, Amphisbaenia) based on high-resolution X-ray computed tomography. *J. Morphol.*, v. 267, p. 70–102, 2006.

MATERIALISE. Mimics Software, 2010.

MAYA, A. Datorprogram. San Rafael, CA: Autodesk, Inc, 2012.

MEASEY, G.J.; HERREL, A. Rotational feeding in caecilians: putting a spin on the evolution of cranial design. *Biol. letters*, v. 2, n. 4, p. 485–487, 2006.

MEASEY, G.J.; TOLLEY, K.A. A molecular phylogeny for sub-Saharan amphisbaenians. *Afr. J. Herpetol.*, v. 62, p. 100– 108, 2013.

MELORO, C.; CÁCERES, N.; CAROTENUTO, F.; PASSARO, F.; SPONCHIADO, J.; MELO, G.L.; RAIA, P. Ecogeographical variation in skull morphometry of howler monkeys (Primates: Atelidae). *Zool. Anz.*, v. *253*, p. 345–359, 2014.

MENDES, R.G. *Phylogeny and evolution of head shape in the Amphisbaenia (Reptilia: Squamata)*. Tese de Doutorado - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

MONTERO, R.; DAZA, J.D.; BAUER, A.M.; ABDALA, V. How common are cranial sesamoids among squamates?. *J. Morphol.*, v. 278, n. 10, p. 1400–1411, 2017.

MONTEIRO L.; REIS, S.F. *Princípios de morfometria geométrica.* Ribeirão Preto: Holos Editora, 1999.

MORAES, D.A. A morfometria geométrica e a “Revolução na Morfometria” localizando e visualizando mudanças na forma dos organismos. *Bioletim–Rev. Divul. Cient. Estud.Biol.*, v. 3, p. 1–5, 2004.

MOTT, T.; VIEITES, D.R. Molecular phylogenetics reveals extreme morphological homoplasy in Brazilian worm lizards challenging current taxonomy. *Mol. Phylogenet. Evol.*, n. 51, p. 190–200, 2009.

MÜLLER, J.; HIPSLEY, C.A.; HEAD, J.J.; KARDJILOV, N.; HILGER, A.; WUTTKE, M.; REISZ, R.R. Eocene lizard from Germany reveals amphisbaenian origins. *Nature*, v. 473, n. 7347, p. 364, 2011.

NATHAN, R. An emerging movement ecology paradigm. *Pro. Nat. Acad. Sci.*, v. 105, n. 49, p. 1950–1951, 2008.

NAVAS, C.A.; ANTONIAZZI, M.M.; CARVALHO, J.E.; CHAUI-BERLINK, J.G.; JAMES, R.S.; JARED, C.; KOHLSDORF, T.; PAI-SILVA, M.D.; WILSON, R.S. Morphological and physiological specialization for digging in amphisbaenians, an ancient lineage of fossorial vertebrates. *J. Exp. Biol.*, v. *207*, p. 2433–2441, 2004.

NAVEGA-GONÇALVES, M.E.C. Anfisbênias: quem são essas desconhecidas? *Ciência Hoje*, v. 34, p. 66–68, 2004.

ODUM, E.P. *Ecologia*. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988.

PEDROTTI, A.; PAULETO, E.; CRESTANA, S.; FERREIRTA, M.; DIAS-JUNIOR, M.S.; GOMES, A.S.; TURATTI, A.L. Resistência mecânica à penetração de um Planossolo submetido a diferentes sistemas de cultivo. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*, v. 25, p. 521–529, 2001.

PEREZ, R.; RIBEIRO, S.L.B. Reptilia, Squamata, Amphisbaenidae, *Leposternon* spp.: Distribution extension, new state record, and geographic distribution map. *Check List*, v. 4, p. 291–294, 2008.

PINHEIRO, C.J.G. *Desenvolvimento de um algortimo para quantificação de micro-estruturas em tomografias 3D de objetos complexos obtidas com radiação síncrotron.* 111f. Tese de Doutorado – COOPE/UFRJ, Rio de Janeiro, 2008.

PORTO, M.; SOARES, M.; CARAMASCHI, U. A new species of *Leposternon* (Amphisbaenia, Amphisbaenidae) from Minas Gerais, Brazil, with a key to the species of the genus (Amphisbaenia, Amphisbaenidae). *Bol. Mus. Nac.*, v. 412, p. 1–10, 2000.

POUGH, F.H.; JANIS, C.M.; HEISER, J.B. *A Vida dos Vertebrados*. São Paulo: Atheneu, 2008. 683p.

RENOUS, S.L. *Locomotion.* Paris: Dunod, 1994

RIBEIRO, S.; NOGUEIRA, C.; CINTRA, C.E.D; SILVA-JR, N.J.; ZAHER, H. Description of a new pored *Leposternon* (Squamata, Amphisbaenidae) from the Brazilian Cerrado. *South Am. J. Herpetol.*, v. 6, p. 177–188, 2011.

RIBEIRO, S.; SANTOS-JR, A.P.; ZAHER, H. A new species of *Leposternon* Wagler, 1824 (Squamata, Amphisbaenia) from northeastern Argentina. *Zootaxa*, v. 4034, p. 309–324, 2015.

RIBEIRO, S.; SILVEIRA, A.L.; SANTOS-JR, A.P. A New Species of *Leposternon* (Squamata: Amphisbaenidae) from Brazilian Cerrado with a Key to Pored Species. *J. Herpetol.*, v. 52, p. 50–58, 2018.

RIBEIRO, S.; VAZ-SILVA, W.; SANTOS-JR, A.P. New pored *Leposternon* (Squamata, Amphisbaenia) from Brazilian Cerrado. *Zootaxa,* v. 1930, 18–38, 2008.

ROCHA-BARBOSA, O. *Analyse morpho-fonctionnelle des convergences de l'appareil locomoteur des grands rongeurs caviomorphes d'Amérique du sud et de petits artiodactyles d'Afrique et d'Asie*. Tese de Doutorado - Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, 1997.

ROCHA-BARBOSA, O.; NOVELLI, R. *Diversidade Biológica dos Deuterostomados*. 2. ed. Rio de Janeiro: CECIERJ, 2004. v. 4. 176p.

ROCHA, C.F.D.; BERGALLO, H.G.; POMBAL-JR, J.P.; GEISE, L.; VAN-SLUYS, M.; FERNANDES, R.; CARAMASCHI, U. Fauna de anfíbios, répteis e mamíferos do Estado do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil. *Publ. Avulsas Mus. Nac.*, v. 104, p. 3–23, 2004.

ROCHA, C.F.D.; BERGALLO, H.G.; FIDALGO, E.C.C.; UZÊDA, M.C.; COSTA, M.B.; ALVES, M.A.S.; SLUYS, M.V.; SANTOS, M.A.; COSTA, T.C.C.; COZZOLINO, A.C.R. *Estratégias e ações para a conservação da biodiversidade no Estado do Rio de Janeiro.* Rio de Janeiro: Instituto Biomas, 2009.

ROHLF, F.J. tpsDig, digitize landmarks and outlines, version 2.0. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, 2004.

ROHLF, F.J. The Method of Random Skewers. *Evol. Biol.*, n 44, p. 542–550, 2017.

ROHLF, F.J.; CORTI, M. Use of two-block partial least squares to study covariation in shape. *Syst. Biol.*, v. 49, p. 740–753, 2000.

ROHLF, F.J.; MARCUS, L.F. A revolution morphometrics. *Trends ecol. evol.*, v. 8, n. 4, p. 129–132, 1993.

ROHLF, F.J.; SLICE, D. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Syst. Biol.*, v. 39, p. 40–59, 1990.

SANTOS, J.A. Reconstrução tridimensional do esqueleto de *Cavia aperea* Erxleben, 1777 (Rodentia: Caviidae). *Mastozool. Neotrop.*, v. 20, n. 2, p. 435–436, 2013.

SAVITZKY, A.H. *The origin of the New World proteroglyphous snakes and its bearing on the study of the venom delivery systems in snakes*. Tesis de Doutorad - University of Kansas, Lawrence, 1979.

SILVEIRA, D.D.C.; MELO-FILHO, J.F.D.; SACRAMENTO, J.A.A.S.; SILVEIRA, E.C.P. Relação umidade versus resistência à penetração para um Argissolo Amarelo distrocoeso no recôncavo da Bahia. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*, v. 34, p. 659–667, 2010.

SINDACO, R.; KORNILIOS, P.; SACCHI, R.; LYMBERAKIS, P. Taxonomic reassessment of *Blanus strauchi* (Bedriaga, 1884)(Squamata: Amphisbaenia: Blanidae), with the description of a new species from south-east Anatolia (Turkey). *Zootaxa*, v. 3795, n. 3, p. 311–326, 2014.

SHEETS, H.D. IMP software series. Disponível em http://www.canisius.edu/~sheets/morphsoft.html/, 2002.

SOUZA, I.S. Utilização da microtomografia computadorizada com feixe de raios x cônico para a determinação quantitativa do volume da traqueia e faringe do *Rhodnius prolixus*. 67f. Tese de Doutorado - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

STATSOFT INC. Statistica data analysis system version 8.0. 2008.

SUMMERS, A.P.; O'REILLY, J.C. A comparative study of locomotion in the caecilians *Dermophis mexicanus* and *Typhlonectes natans* (Amphibia: Gymnophiona). *Zool. J. Linn. Soc.*, v. 121, n.1, p. 65-76, 1997.

TAVARES, A.P.G. *Composição e distribuição de Amphisbaenia em solos do semiárido no Nordeste do Brasil*. 115f. Monografia, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, 2015.

UETZ, P.; FREED, P.; HOSEK, J. The Reptile Database, http://www.reptile-database.org, acesso em 5 outubro, 2016.

UETZ, P.; HOŠEK, J. The Reptile Database. http:www.reptile-database.org Electronic version acessado em 22 março, 2018.

VANHOOYDONCK, B.; BOISTEL, R.; FERNANDEZ, V.; HERREL, A. Push and bite: trade-offs between burrowing and biting in a burrowing skink (*Acontias percivali*). *Biol. J. Linn. Soc.*, v. 102, p. 91–99, 2011.

VANZOLINI, P.E. *Evolution, adaptations and distribution of the amphisbaenid lizards (Sauria: Amphisbaenidae).* 148f. Tese de Doutorado - Harvard University, Cambridge, 1951.

VIDAL, N.; AZVOLINSKY, A.; CRUAUD, C.; HEDGES, S.B. Origin of tropical American burrowing reptiles by transatlantic rafting. *Biol. Letters*, v. 4, p. 115–118, 2008.

VISCOSI, V.; CARDINI, A. Leaf morphology, taxonomy and geometric morphometrics: a simplified protocol for beginners. *PLoS One,* v. *6*, e25630, 2011.

WEBSTER, M.; SHEETS, H. D. A practical introduction to landmark-based geometric morphometrics. *Paleontol. Soc. Papers*, v. 16, p. 163–188, 2010.

WIENS, J.J.; CHIPPINDALE, P.T.; HILLIS, D.M. When are phylogenetic analyses misled by convergence? A case study in Texas cave salamanders. *Syst. Biol.*, p. 501–514, 2003.

ZAMPROGNO, C.; SAZIMA, I. Vertebrate predation on the neotropical amphisbaenian *Leposternon wuchereri*. *Herpetol. Rev.*, v. 24, p. 82-83, 1993.

ZANGERL, R. Contributions to the osteology of the skull of the Amphisbaenidae. *Am. Midl. Nat.*, v. 31, p. 417–454, 1944.

ZARR, J.H. *Biostatistical Analysis*. New Jersey: Prentice Hall, 1999.

ZELDITCH, M.L.; SWIDERSKI, D.L.; SHEETS, H.D.; FINK, W.L. *Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer*. Amsterdam: Elsevier, 2004.

ZIHLMANN, M.S.; GERBER, H.; STACOFF, A.; BURCKHARDT, K.; SZÉKELY, G.; STÜSSI, E. Three-dimensional kinematics and kinetics of total knee arthroplasty during level walking using single plane video-fluoroscopy and force plates: a pilot study. *Gait Posture*, v. 24, n. 4, p. 475–481, 2006.

APÊNDICE A – Lista completa dos exemplares de *Leposternon* analisados (N = 76).

Espécie	Identificação	Sexo	Localidade
L. microcephalum	1/2012	I	Rio de Janeiro, RJ, Brasil
L. microcephalum	3/2012	I	Rio de Janeiro, RJ, Brasil
L. microcephalum	4/2012	I	Rio de Janeiro, RJ, Brasil
L. microcephalum	5/2012	I	Rio de Janeiro, RJ, Brasil
L. microcephalum	8/2012	I	Rio de Janeiro, RJ, Brasil
L. microcephalum	9/2012	I	Rio de Janeiro, RJ, Brasil
L. microcephalum	10/2012	I	Rio de Janeiro, RJ, Brasil
L. scutigerum	1/2017	I	Rio de Janeiro, RJ, Brasil
L. infraorbitale	ZUFRJ 1313	F	Ilhéus, BA, Brasil
L. infraorbitale	ZUFRJ 1330	F	Ilhéus, BA, Brasil
L. infraorbitale	MNRJ 4034	F	Ilhéus, BA, Brasil
L. infraorbitale	MNRJ 4035	I	Itabuna, BA, Brasil
L. infraorbitale	MNRJ 4455	F	Ilhéus, BA, Brasil
L. infraorbitale	MNRJ 4456	F	Ilhéus, BA, Brasil
L. polystegum	MPEG 7145	M	Bragança, PA, Brasil
L. polystegum	MPEG 6559	M	Bragança, PA, Brasil
L. polystegum	MPEG 6649	M	Bragança, PA, Brasil
L. polystegum	MPEG 6650	I	Bragança, PA, Brasil
L. polystegum	MPEG 6671	F	Bragança, PA, Brasil
L. polystegum	MPEG 6624	F	Bragança, PA, Brasil
L. polystegum	MPEG 6604	M	Bragança, PA, Brasil
L. polystegum	MPEG 6634	M	Bragança, PA, Brasil
L. polystegum	MPEG 6673	F	Bragança, PA, Brasil
L. polystegum	MPEG 7223	F	Bragança, PA, Brasil
L. polystegum	MPEG 7600	M	Bragança, PA, Brasil
L. polystegum	MPEG 7602	F	Bragança, PA, Brasil
L. polystegum	UFC-L 1959	I	Maranguape, CE, Brasil
L. polystegum	UFC-L 2071	M	Ubajara, CE, Brasil
L. polystegum	ZUFRJ 527	M	Fortaleza, CE, Brasil
L. wuchereri	ZUFES 15/126	M	Mucuri, BA, Brasil
L. wuchereri	ZUFES 15/131	M	Mucuri, BA, Brasil
L. wuchereri	ZUFES 15/203	F	Mucuri, BA, Brasil
L. wuchereri	ZUFES 15/208	F	Mucuri, BA, Brasil
L. wuchereri	ZUFES 15/209	F	Mucuri, BA, Brasil

Espécie	Identificação	Sexo	Localidade
L. wuchereri	ZUFES 15/227	F	Mucuri, BA, Brasil
L. wuchereri	ZUFES 15/228	I	Mucuri, BA, Brasil
L. wuchereri	ZUFES 15/229	I	Mucuri, BA, Brasil
L. wuchereri	ZUFES 15/236	I	Mucuri, BA, Brasil
L. wuchereri	ZUFRJ 1555	I	Indeterminado
L. scutigerum	MNRJ4036	I	Rio de Janeiro, Brasil
L. scutigerum	MNRJ4037	I	Rio de Janeiro, Brasil
L. scutigerum	MNRJ 4038	I	Itaboraí, RJ, Brasil
L. scutigerum	MNRJ4458	I	Rio de Janeiro, Brasil
L. scutigerum	MNRJ 4490	M	Maricá, RJ, Brasil
L. scutigerum	MNRJ4791	I	Rio de Janeiro, Brasil
L. scutigerum	ZUFRJ 550	F	Itaboraí, RJ, Brasil
L. scutigerum	ZUFRJ 1399	M	Itaboraí, RJ, Brasil
L. scutigerum	ZUFRJ1401	I	Rio de Janeiro, Brasil
L. scutigerum	ZUFRJ1417	M	Rio de Janeiro, Brasil
L. scutigerum	ZUFRJ 1511	M	Saquarema, RJ, Brasil
L. scutigerum	UERJ 710	I	Rio de Janeiro, RJ, Brasil
L. microcephalum	MHNCI 3034	M	Adrianópolis, PR, Brasil
L. microcephalum	MHNCI 3538	M	Paranaguá, PR, Brasil
L. microcephalum	UnB 3663	F	Brasília (DF), GO, Brasil
L. microcephalum	UNNEC 511	M	Corrientes, Argentine
L. microcephalum	ZUFRJ 240	M	Bom Jesus do Itabapoana, RJ, Brasil
L. microcephalum	ZUFRJ 249	F	Rio de Janeiro, RJ, Brasil
L. microcephalum	ZUFRJ 285	I	Rio de Janeiro, RJ, Brasil
L. microcephalum	ZUFRJ 462	M	Rio de Janeiro, RJ, Brasil
L. microcephalum	ZUFRJ 467	F	Rio de Janeiro, RJ, Brasil
L. microcephalum	ZUFRJ 468	M	Rio de Janeiro, RJ, Brasil
L. microcephalum	ZUFRJ 1001	I	Governador Celso Ramos, SC, Brasil
L. microcephalum	ZUFRJ 1317	M	Petrópolis, RJ, Brasil
L. microcephalum	ZUFRJ 1320	M	Petrópolis, RJ, Brasil
L. microcephalum	ZUFRJ 1321	M	Petrópolis, RJ, Brasil
L. microcephalum	ZUFRJ 1514	I	Indeterminado
L. microcephalum	ZUFRJ 1282	I	Indeterminado
L. microcephalum	ZUFRJ 975	I	Indeterminado
L. microcephalum	MHNCI 7347	F	Espigão d'Oeste, RO, Brasil

Espécie	Identificação	Sexo	Localidade
L. microcephalum	MNHNP 244	I	Departamento Caazapá, Paraguay
L. microcephalum	MNHNP 5114	M	Ayolas, DM, Paraguay
L. microcephalum	MNRJ 4789	F	Joinville, SC, Brasil
*L. microcephalum**	NMB 3818	M	Colonia Nueva Colombia, DCo, Paraguay
*L. microcephalum**	NMB 3819	M	Colonia Nueva Colombia, DCo, Paraguay
*L. microcephalum**	MNHNP 5112	M	Areguá, DC, Paraguay
*L. microcephalum**	NMB 3820	M	Colonia Nueva Colombia, DCo, Paraguay

Legenda: Museus e Coleções: **MHNCI:** Museu de História Natural do Capão da Imbuia; **MNHNP:** Museo Nacional de Historia Natural del Paraguay; **MNRJ:** Museu Nacional do Rio de Janeiro/UFRJ; **MPEG:** Museu Paraense Emílio Goeldi; **NMB:** Naturhistorisches Museum, Basel; **UERJ:** Coleção herpetologica da Universidade do Estado do Rio de Janeiro; **UFC:**Universidade Federal do Ceará; **UnB:** Universidade de Brasília - DF; **UNNEC:** Universidad Nacional del Nordeste – Corrientes (Argentine); **ZUFES:** Zoologia, Universidade Federal do Espírito Santo.; **ZUFRJ:** Zoologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

BA = Bahia; CE = Ceará; DC = Departamento Central; DCo = Departamento Cordillera; DF = Distrito Federal; DM = Departamento Misiones; GO = Goiás; PA = Pará; PR = Paraná; RJ = Rio de Janeiro; RO = Rondônia; SC = Santa Catarina; F = fêmea; M = macho; I = indeterminado; * = *Leposternon* sp de acordo com Barros-Filho (2000). Os primeiros nove animais foram registrados e liberados de volta à natureza e são identificados pelo número de espécime / ano de registro.

APÊNDICE B – Skull variation in a shovel-headed amphisbaenian genus, inferred from the geometric morphometric analysis of five South American *Leposternon* species.

Abbreviated title: Skull variation in *Leposternon* spp.

Leandro S. L. Hohl[1,2,3], José D. Barros-Filho[1]& Oscar Rocha-Barbosa[1,2*]

[1]Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Laboratório de Zoologia de Vertebrados Tetrapoda – LAZOVERTE, Rua São Francisco Xavier, 524, Maracanã, CEP 20550-013, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

[2]Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução, Rua São Francisco Xavier, 524, Maracanã, CEP 20550-013, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

[3]Coordenação de Biologia, Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca – CEFET/RJ, Av. Maracanã, 229, Maracanã, CEP 20271-110, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

Corresponding author: Oscar Rocha-Barbosa

Tel. : (+55) (21) 2334-0893.

E-mail:obarbosa@uerj.br